

B6

B7

(19) 【発行国】日本国特許庁 (JP)
 (12) 【公報種別】公開特許公報 (A)
 (11) 【公開番号】特開平7-233165
 (43) 【公開日】平成7年(1995)9月5日
 (54) 【発明の名称】新規抗真菌化合物
 (51) 【国際特許分類第6版】
 C07D405/12 213
 C12P 17/16 7432-4B
 // A01N 43/40 101 D
 A61K 31/44 ADZ
 (C07D405/12
 213:81
 321:00)
 (C12P 17/16
 C12R 1:645)
 【審査請求】未請求
 【請求項の数】4
 【出願形態】OL
 【全頁数】10
 (21) 【出願番号】特願平6-26884
 (22) 【出願日】平成6年(1994)2月24日
 (71) 【出願人】
 【識別番号】000001904
 【氏名又は名称】サントリー株式会社
 【住所又は居所】大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
 (71) 【出願人】
 【識別番号】000006091

(19) [Publication Office] Japanese Patent Office (JP)
 (12) [Kind of Document] Japan Unexamined Patent Publication (A)
 (11) [Publication Number of Unexamined Application (A)] Japan Unexamined Patent Publication Hei 7-233165
 (43) [Publication Date of Unexamined Application] 1995 (1995) September 5 day
 (54) [Title of Invention] NOVEL ANTIMYCOTIC COMPOUND
 (51) [International Patent Classification 6th Edition]
 C07D405/12 213
 C12P 17/16 743 2-4B
 // A01N 43/40 101 D
 A61K 31/44 ADZ
 (C07D405/12
 213: 81
 321: 00)
 (C12P 17/16
 C12R 1: 645)
 [Request for Examination] Examination not requested
 [Number of Claims] 4
 [Form of Application] OL
 [Number of Pages in Document] 10
 (21) [Application Number] Japan Patent Application Hei 6-26884
 (22) [Application Date] 1994 (1994) February 24 day
 (71) [Applicant]
 [Applicant Code] 000001904
 [Name] SUNTORY LIMITED
 [Address] Osaka Prefecture Osaka City Kita-ku Dojimahama 2-1-40
 (71) [Applicant]
 [Applicant Code] 000006091

【氏名又は名称】明治製菓株式会社

[Name] MEIJI SEIKA KAISHA LTD. (DB 69-054-1941)

【住所又は居所】東京都中央区京橋2丁目4番16号

[Address] Tokyo Chuo-ku Kyobashi 2-4-16

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】谷口 誠

[Name] Taniguchi sincerity

【住所又は居所】大阪府岸和田市上松町1201の3

[Address] 3 of Osaka Prefecture Kishiwada City Kamimatsu-cho 1201

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】柴田 耕造

[Name] Shibata Kozo

【住所又は居所】大阪府和泉市緑ヶ丘23の8

[Address] 8 of Osaka Prefecture Izumi City Midorigaoka 23

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】阿部 圭一

[Name] Abe Keiichi

【住所又は居所】大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号
サントリー株式会社生物医学研究所内

[Address] Inside of Osaka Prefecture Mishima-gun Shimamoto-cho Wakayamadaidai 1-1-1 Suntory Institute for Biomedical Research

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】児玉 亨

[Name] Kodama Toru

【住所又は居所】大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号
サントリー株式会社生物医学研究所内

[Address] Inside of Osaka Prefecture Mishima-gun Shimamoto-cho Wakayamadaidai 1-1-1 Suntory Institute for Biomedical Research

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】魚谷 和道

[Name] Uotani Kazumichi

【住所又は居所】神奈川県小田原市柏山788 明治製菓株式会社薬品技術研究所内

[Address] Inside of Kanagawa Prefecture Odawara City Kayama 788 Meiji Seika Kaisha Ltd. (DB 69-054-1941) chemical technology research laboratory

(72) 【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】大西 由孝

[Name] Onishi Yoshitaka

【住所又は居所】神奈川県小田原市柏山788 明治製菓株式会社薬品技術研究所内

[Address] Inside of Kanagawa Prefecture Odawara City Kayama 788 Meiji Seika Kaisha Ltd. (DB 69-054-1941) chemical technology research laboratory

(74) 【代理人】

(74) [Attorney(s) Representing All Applicants]

【弁理士】

[Patent Attorney]

(57) 【要約】

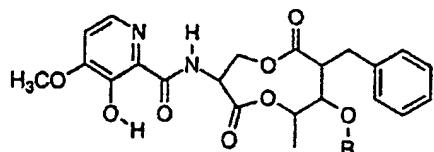
(57) [Abstract]

【目的】 強い抗真菌作用を示し、かつ安全性の高い物質を得ることを目的とする。

[Objective] It shows strong antimycotic action, it designates that substance where at the same time safety is high is obtained as objective.

【構成】式(1)：

【化1】

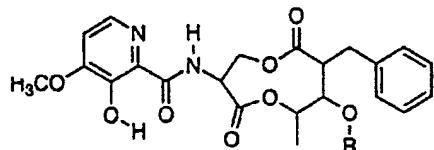


(式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される抗真菌化合物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】式(1)：

【化1】



(式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される抗真菌化合物。

【請求項2】Rで示される脂肪族アシル基が、イソブチリル基、チグロイル基、イソバレリル基または2-メチルブタノイル基である請求項1に記載の抗真菌化合物。

【請求項3】ストレプトバーティシリウムに属する、請求項1に記載の化合物生産菌を培養して、その培養液および/または培養菌体から請求項1に記載の抗真菌化合物を製造する方法。

【請求項4】前記抗真菌化合物生産菌がストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084 (Streptoverticillium sp. SAM2084, 工業技術院生命工学工業技術研究所受託番号 FERM P-14154) である請求項3に記載の抗真菌化合物を製造する方法。

[Constitution] Formula (1) :

[Chemical Formula 1]

Antimycotic compound which is displayed with (In Formula, R shows saturated aliphatic acyl group of straight or branched or unsaturated aliphatic acyl group of the straight or branched.).

[Claim(s)]

[Claim 1] Formula (1) :

[Chemical Formula 1]

Antimycotic compound which is displayed with (In Formula, R shows saturated aliphatic acyl group of straight or branched or unsaturated aliphatic acyl group of the straight or branched.).

[Claim 2] Aliphatic acyl group which is shown with R, antimycotic compound which is stated in the Claim 1 which is a isobutyryl group, a tigloyl group, a isovaleryl group or a 2 - methyl butanoyl group.

[Claim 3] Culturing compound producing microbe which belongs to Streptoverticillium, states in Claim 1, the method which produces antimycotic compound which from fermentation broth and/or cultured cell mass it states in the Claim 1.

[Claim 4] Aforementioned antimycotic compound producing microbe Streptoverticillium sp. * SAM2084 (the method which produces antimycotic compound which is stated in Claim 3 which is a Streptoverticillium sp. SAM2084, Agency of Industrial Science and Technology National Institute of Bioscience and Human-Technology deposit number FERM P-14154.

【発明の詳細な説明】

【0001】

[Description of the Invention]

[0001]

【産業上の利用分野】本発明は新規な抗真菌抗生物質 UK - 2 およびその製造方法に関する。

【0002】

【從来の技術】酵母および糸状菌は真核生物であり、原核生物である細菌に対して真菌と称されている。これらの真菌のうちある種のものはヒトに対して病原性を示し、真菌感染症の起因菌とされている。これら真菌の病原性は概ね弱いものであるが、何らかの原因で抵抗力の低下した状態の患者には、重篤な症状を来すことがあり、その治療に有用な薬剤の開発が待たれている。

【0003】また、ある種の真菌は植物病原菌として知られており、植物病防御の面でも、新たな農園芸用防黴剤の開発が待たれている。さらに、最近の住宅事情を反映した結露等による住宅への糸状菌の侵入は、ヒトにアレルギー等の症状をもたらすので、この有効な対策が待たれている。

【0004】従来、これらの問題点を克服すべく、種々の抗真菌抗生物質や抗真菌剤が開発されており、一応の成果が得られてはいるが、前述のように真菌はヒトと同様に真核生物であり、強い抗真菌作用を示す物質はヒトに対しても毒性を示す場合が多く、実用面で多くの解決すべき課題が残されている。

【0005】

【発明が解決すべき課題】このように、強い抗真菌作用を示し、かつ、安全性の高い物質を得ることが、本発明が解決すべき課題である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、これらの背景のもと、より安全性に優れた抗真菌剤の開発を目指し、抗真菌活性と培養細胞（マウス白血病 P 388）に対する細胞毒性を指標に、広く土壤分離菌からの有用化合物のスクリーニングを実施し、ストレプトバーティシリウムに属する菌株が、強い抗真菌作用を示し、かつ、培養細胞に対する細胞毒性が低い物質を產生することを見いだし、この抗真菌化合物の単離・精製およびその構造決定を試みた結果、この化合物が、式（1）：

【0007】

【Field of Industrial Application】 This invention regards novel antimycotic antibiotic UK - 2 and its manufacturing method.

【0002】

【Prior Art】 It is named fungi vis-a-vis bacteria where yeast and the fungi are eukaryote, are prokaryotic organism. Those of kind which is among these fungi show pathogenicity vis-a-vis the human, are made causal microbe of mycosis. pathogenicity of these fungi is in general weak ones, but, there are times when severe symptom is caused in patient of state where resistance forced decreases with a some cause, development of useful drug is expected to the treatment.

【0003】 In addition, fungi of a certain kind is known, as plant pathogen, development of antifungal agent for new horticulture is expected even in aspect of plant disease protection. Furthermore, because invasion of fungi to house due to the dew condensation etc which reflects recent house situation brings allergy or other symptom to the human, this effective fix is expected.

【0004】 Until recently, in order that these problems are overcome, various antimycotic antibiotic and the antimycotic are developed, contingent result is acquired and enters, but aforementioned way fungi is eukaryote in same way as the human, as for substance which shows strong antimycotic action when the toxicity is shown vis-a-vis human is many, many problem to be solved remain from the practical aspect.

【0005】

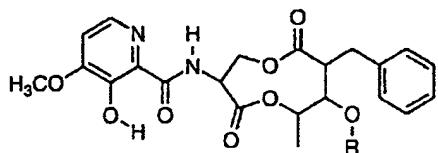
【Problem to be Solved by Invention】 This way, strong antimycotic action is shown, at same time, fact that the substance where safety is high is obtained, this invention problem to be solved.

【0006】

【Means to Solve the Problems】 As for these inventors, Origin of these background, From development of antimycotic which is superior in safety to aim, cytotoxicity for antimycotic activity and cultured cell (mouse leukemia P388) in indicator, screening of the used compound from microbe isolated from soil is executed widely, strain which belongs to the *Streptoverticillium*, shows strong antimycotic action, at same time, result of discovering fact that substance where cytotoxicity for cultured cell is low is produced, as for isolation and purification of this antimycotic compound and trying its structure determination, this compound, Formula (1) :

【0007】

【化2】



【0008】(式中、Rは直鎖もしくは分岐の飽和脂肪族アシル基または直鎖もしくは分岐の不飽和脂肪族アシル基を示す)で表される新規の構造を有する抗真菌化合物であることを見いだし、この化合物をUK-2と命名した。

【0009】さらに本発明者らは、このUK-2が、糸状菌および酵母を始めとする種々の真菌に対して抗真菌活性を有し、医療用抗真菌剤、農園芸用防黴剤および工業用防黴剤の有効成分として有用であることを見いだし、本発明を完成した。すなわち、本発明によれば、前記式(1)で表される新規な抗真菌物質UK-2とその製造法を提供することができる。

【0010】本発明に使用される微生物としては、前記式(1)で示されるUK-2を生産することができるストレプトバーティシリウムに属する微生物であれば、いずれも使用することができる。この様な微生物は、土壤等の微生物分離源から常法に従って放線菌を分離し、次にこれらの菌株からUK-2を产生する菌株を選択することにより得られる。このようなUK-2生産菌の一例としては、本発明者らが京都府の土壤より分離し、その菌学的性質からストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084株(Streptoverticillium sp. SAM2084)と命名して、平成6年2月17日に受託番号FERM P-14154として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託した放線菌を挙げることができる。この微生物は、放線菌の保存のための常法に従って保存することができる。この微生物SAM2084株は次のような菌学的性質を有する。

【0011】I. 形態的性状：栄養菌糸は長く伸長、よく分岐し、通常の条件下では分断しない。気菌糸はスター-チ寒天、グリセロール・アスパラギン寒天、イースト・麦芽寒天で豊富に着生し、胞子形成も良好である。気菌糸の分岐は典型的な車輪分岐である。分岐枝の先端はトックリ様を呈し、1.0～2.0本の直線状の胞子連鎖を着生する。電子顕微鏡による観察では、胞子は円筒型、0.5～0.6×1.5～2.0μmの大きさで、表面は平滑、通常10～20個程度連鎖する。胞子囊、運動性胞子および菌核は観察されない。

[Chemical Formula 2]

[0008] You discovered fact that it is a antimycotic compound which possesses structure of novel which is displayed with (In Formula, R shows saturated aliphatic acyl group of straight or branched or unsaturated aliphatic acyl group of the straight or branched.), this compound UK-2 designated.

[0009] Furthermore as for these inventors, this UK-2, has antimycotic activity vis-a-vis the various fungi which begins fungi and yeast, fact that it is useful as medical antimycotic, antifungal agent for horticulture and active ingredient of industrial antifungal agent was discovered, this invention was completed. According to namely, this invention, novel antimycotic substance UK-2 and production method which are displayed with aforementioned Formula (1) can be offered.

[0010] If it is a microorganism which belongs to Streptoverticillium which can produce the UK-2 which is shown with aforementioned Formula (1) as microorganism which is used for this invention, in each case can use. This kind of microorganism from soil or other microorganism isolation source following to conventional method, separates the Actinomycetes, is acquired by selecting strain which produces UK-2 next from these strain. As one example of this kind of UK-2 producing microbe, these inventors separates from soil of Kyoto Prefecture, Streptoverticillium sp. * SAM2084 strain (Streptoverticillium sp. SAM2084) designates from microbiological characteristic, can list Actinomycetes which deposit is done to Agency of Industrial Science and Technology National Institute of Bioscience and Human-Technology in 1994 February 17 day as deposit number FERM P-14154. Following to conventional method for retaining Actinomycetes, it can retain this microorganism. This microorganism SAM2084 strain has next kind of microbiological characteristic.

[0011] I. morphological properties : Hyphae diverges does not do extension, long, well under conventional condition the fragment, adhesion it does aerial mycelium abundantly with starch agar, glycerol * asparagine agar and the yeast * malt agar, also condiospore formation is good. branching of aerial mycelium is typical radial branch, turtleneck way it displays end of branch, adhesion does the spore linkage of linear of 10 to 20. In observation with

electron microscope, as for spore with size of the cylinder and 0.5 to 0.6 X 1.5 to 2.0 μ m, smooth and usually 10 to 20 the extent linkage it does surface. sporangium, motile condiospore or sclerotium are not observed.

【0012】II. 各種培地上の生育状態：各種寒天培地上の生育状態は【表1】に示す通りである。色の記載について、(括弧内)に示す標準は、コンテナー・コーポレーション・オブ・アメリカ(Container Corporation of America)社製の「カラー・ハーモニー・マニュアル(Color Harmony Manual)」に記載のものを用い、観察は28°Cで14~21日培養後に行った。

[0012] As for in growth state on growth state : various agar culture medium on II. various culture medium (Table 1) shown, is. Concerning statement of color, as for standard which is shown in the (Inside of parenthesis), as for observation with 28 °C it did after 14 to 21 day culturing making use of those which are stated in "Color Harmony Manual (color Harmony Manual)" of Container Corporation of America (Container corporation of America) supplied.

【0013】

【表1】

【表1】各種培地上の生育状態

培地	発育/裏面の色	気胞糸の性状/色	可溶性色素
ショウガ-硝酸塩寒天	微弱/なし	なし	なし
グリコース-アラガム寒天	良好/なし	なし	なし
グリセロ-アラガム寒天	良好/黒褐色	豊富 繊毛状 /淡黄灰色(1 1/2ec)	淡褐色
スター-チ寒天	良好/淡褐色	豊富 繊毛様 /淡黄灰色(1 1/2ec)	なし
オートミール寒天	普通/淡褐色	貧弱 /淡灰色(1dc)	なし
イースト・麦芽寒天	良好/黒褐色	豊富 繊毛様 /灰緑色(1 1/2ge)	黒褐色
チロシン寒天	微弱/なし	なし	なし
栄養寒天	普通/なし	なし	なし
リボ酸カルシウム寒天	微弱/なし	なし	なし
ペネット寒天	良好/淡褐色	豊富 繊毛様 /灰緑色(1 1/2ge)	淡褐色

[0013]

[Table 1]

【0014】III. 生理的性質：

[0014] III. physiological characteristic:

(1). 生育温度範囲：イースト・スターーチ寒天において 15～41℃の温度範囲で生育し、30℃付近で良好に生育する。

(2). ゼラチンの液化：陽性

(3). スターチの加水分解：陽性

(4). 硝酸塩の還元：陽性

(5). 脱脂乳のペプトン化：陽性

脱脂乳の凝固：陰性

(6). 耐塩性：1.5% NaCl 含有培地では生育するが、NaCl 3%以上では強く生育阻害を受ける。

(7). メラニン様色素の生成：陰性

【0015】IV. 炭素源の利用性 (ISP-9 培地使用)

(1). 利用する炭素源：D-グルコース、D-フルクトース、グリセロール、キシロース、D-マンニトール、myo-イノシトル、シクロース、L-アラビノース

(2). 利用しない炭素源：L-ラムノース、ラフィノース

【0016】V. 菌体分析：ベッカー(Becker)らの方法(Appl. Microbiol. 13:236, 1965)により分析した結果、全菌体加水分解物中のジアミノピメリン酸はLL型であった。

【0017】以上の性状より、SAM2084株は放線菌の中でストレプトバーティシリウム属(Genus Streptoverticillium)に所属し、気菌糸色調は"Yellow to Green"シリーズ、気菌糸の分岐は車輪型で胞子連鎖は直線状、胞子表面は平滑状、生育裏面の色調は淡褐色～黒褐色で、褐色系の可溶性色素を生産する菌株と要約される。このような菌学的性質を持つ菌株を、ストレプトバーティシリウム属の種の記載と比較すると、ストレプトバーティシリウム・モロオカエンス (Streptoverticillium morookae ns e) に近縁と考えられる。しかし、生理的性質で相違する点も幾つか存在しており、本菌株をストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084株 (Streptoverticillium sp. SAM2084) と呼称する。

【0018】前記式(1)のRで示される直鎖または分岐の飽和脂肪族アシル基の例としては、アセチル基、プロピオニル基(プロパノイル基)、ブチリル基(ブタノイル基)、イソブチリル基(2-メチルプロパノイル基)、バレリル基(ペントノイル基)、イソバレリル基(3-メチルブタノイル基)、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基

(1). growth temperature range : You grow with temperature range of 15 to 41 °C in yeast * starch agar, with 30 °C vicinity growin good.

(2) Liquefaction : of gelatin Positive

(3) Hydrolysis : positive of starch

(4) nitrate reduction : Positive

(5) Peptonization : positive of skim milk

Coagulation : of skim milk Negative

(6). salt resistance : With 1.5 % NaCl-containing culture medium you grow, but with NaCl 3 % or higher growth inhibition is received strongly.

(7). melanin way pigment production : negative

[0015] Advantage of IV. carbon source (ISP-9 culture medium use)

(1). it utilizes carbon source : D - glucose, D - fructose, glycerol, xylose, D - mannitol, myo - inositol, sucrose, L - arabinose

(2). it does not utilize carbon source : L - rhamnose, raffinose

[0016] V. cell mass analysis : As for result which was analyzed with method (Applied Microbiology (ISSN 0003-6919, CODEN APMBA) 13:236, 1965) of Becker (Becker) and others, as for diamino pimelic acid in total cell mass hydrolysate it was a LL type.

[0017] From properties above, as for SAM2084 strain you belong to genus Streptoverticillium (Genus Streptoverticillium) in the Actinomycetes, as for aerial mycelium color as for branch of "Yellow to Green" series and aerial mycelium as for spore linkage as for linear and spore surface as for color of the smooth and back surface of growth with light brown to blackish brown, strain which produces soluble pigment of brown type you are summarized with radial type. When strain which has this kind of microbiological characteristic, is compared with the statement of kind of genus Streptoverticillium, it is thought close relation in the Streptoverticillium morookae ns e. But, several points which differ with physiological characteristic exist, also Streptoverticillium sp. * SAM2084 strain (Streptoverticillium sp. SAM2084) name this strain.

[0018] Is shown with R of aforementioned Formula (1) as example of the saturated aliphatic acyl group of straight chain or branch which, acetyl group, propanoyl group (propanoyl group), butyryl group (butanoyl group), isobutyryl group (2 - methyl propanoyl group), valeryl group (pentanoyl group),

、デカノイル基、ラウロイル基（ドデカノイル基）、ミリストイル基（テトラデカノイル基）、パルミトイyl基（ヘキサデカノイル基）、ステアロイル基（オクタデカノイル基）（注：カッコ内は一般に使用される慣用名とは異なる！IUPAC名を有する基の場合のそのIUPAC名を示す。以下同じ）等が例示され、式（1）のRで示される直鎖または分岐の不飽和脂肪族アシル基の例としては、アクリロイル基（プロペノイル基）、メタクリロイル基（2-メチルプロペノイル基）、クロトノイル基（trans-2-ブテノイル基）、イソクロトノイル基（cis-2-ブテノイル基）、チグロイル基（trans-2-メチル-2-ブテノイル基）、アンゲロイル基（cis-2-メチル-2-ブテノイル基）、オレオイル基（cis-9-オクタデセノイル基）、エライドイル基（trans-9-オクタデセノイル基）等が例示される。また、かかるUK-2化合物の好ましい具体的な例としては、Rがイソブチリル基（2-メチルプロパンオイル基）であるUK-2A、チグロイル基（trans-2-メチル-2-ブテノイル基）であるUK-2B、イソバレリル基（3-メチルブタノイル基）であるUK-2Cおよび2-メチルブタノイル基であるUK-2D等が例示できる。

【0019】本発明のUK-2化合物は、ストレプトバーティシリウム属に属するUK-2生産菌、例えば、前述のストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084を培養して該物質を生産蓄積させ、その培養液および/または培養菌体から通常の精製手段を用いて精製することにより製造することができる。通常の培養では、UK-2化合物は、Rに種々のアシル基が導入された類縁体の混合物として產生され、主な生産物はUK-2AおよびUK-2Dであり、UK-2B、UK-2Cおよびその他のUK-2化合物は微量しか產生されない。この培養において、培地に所望の脂肪族アシル基Rに対応する脂肪酸又はそのナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩等の可溶性塩を好ましくは1～100 ppm、更に好ましくは1～10 ppm添加することにより、Rに所望の脂肪族アシル基を導入した化合物を得ることができる。例えば、上記培養において、培地に10 ppmのイソ吉草酸を添加して培養すれば、対応するアシル基を有するUK-2化合物であるUK-2Cの生産量を増加させることができる。

【0020】本発明化合物の製造に際し、前記放線菌の培養に使用される培地は、液状でも固体でもよいが、通常は液体培地による振盪培養または通気攪拌培養が有利である。使用する培地は、本発明物質生産菌が生育して本発明物質を蓄積するものであれば、特に限定されるものではないが、炭素源としては、生産菌が資化する糖類、例えばグルコース、ラクトース、グリ

isovaleryl group (3 - methyl butanoyl group), the hexanoyl group, heptanoyl group, octanoyl group, nonanoyl group, decanoyl group, lauroyl group (dodecanoyl group), the myristoyl group (tetradecanoyl group), palmitoyl group (hexadecanoyl group) and stearoyl group (octadecanoyl basis) (Inside Note: parenthesis trivial name which is used generally that IUPAC name incase of group which possesses IUPAC name which differs isshown. Same below) etc are illustrated, acryloyl group (propenoyl group), the methacryloyl group (2 - methylpropenoyl group), crotonoyl group (trans-2- butenoyl group), isocrotonoyl group (cis-2- butenoyl group) and tigloyl group (trans-2 - methyl - 2 - butenoyl group), angeloyl group (cis-2 - methyl - 2 - butenoyl group), the oleoyl group (cis-9 - octadecenoyl group) and elaidoyl group (trans-9 - octadecenoyl group) etc are illustrated as example of unsaturated aliphatic acyl group of the straight chain or branch which is shown with R of Formula (1). In addition, it can illustrate UK-2C which is a UK-2B and a isovaleryl group (3 - methyl butanoyl group) which are a UK-2A and a tigloyl group (trans-2 - methyl - 2 - butenoyl group) where R is isobutyryl group (2 - methyl propanoyl group) as the concrete example where this UK-2 compound is desirable, and UK-2D etc which is a 2 - methyl butanoyl group.

[0019] Culturing UK-2 producing microbe and for example aforementioned Streptoverticillium sp. * SAM2084 which belong to the genus Streptoverticillium, product accumulation doing said substance, it can produce UK-2 compound of the this invention, making use of conventional purification means refining by from culture fluid and/or cultured cell mass. With conventional culture, as for UK-2 compound, it is produced, as mixture of the analog where various acyl group is introduced into R main products UK-2A and UK-2D, UK-2B, UK-2C or other UK-2 compound are produced only trace amount. compound which introduces desired aliphatic acyl group into R at time of this culturing, aliphatic acid which corresponds to desired aliphatic acyl group R in culture medium or sodium salt, potassium salt and ammonium salt or other soluble salt preferably 1 to 100 ppm, furthermore preferably 1 to 10 ppm by adding, can be acquired. At time of for example above-mentioned culturing, adding isovaleric acid of the 10 ppm to culture medium, if it cultures, amount of production of UK-2C which is a UK-2 compound which possesses acyl group which corresponds it can increase.

[0020] At time of production of the compound of this invention, culture medium which is used for culture of aforementioned Actinomycetes with liquid state and is good with solid, but usually swing 蓋 culture or aerated stirred culture due to liquid culture medium is profitable. You use as for culture medium which, this

セリン、デンプン、シュクロース、デキストリン、糖蜜等が用いられ、また窒素源としては、例えばポリペプトン、カザミノ酸等の蛋白質加水分解物、肉エキス、酵母エキス、大豆粕、コーンスティーブリカー、アミノ酸類等の有機窒素源やアンモニウム塩や硝酸塩等の無機窒素源が用いられる。その他、浸透圧調整、pH調整、微量成分の補給等のために、各種磷酸塩、硝酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸カルシウム等の無機塩類を添加することも可能である。さらに菌の生育を促進する目的で、各種ビタミン類、核酸関連化合物等を添加しても良い。なお、培養期間中に、シリコン、ポリプロピレングリコール誘導体、大豆油等の消泡剤を添加することも可能である。

invention substance producing microbe growing, being something which accumulates this invention substance we are, Especially, saccharides, for example glucose, lactose, glycerin, starch, the sucrose, dextrin and molasses etc which assimilation are done it can use the producing microbe it is not something which is limited but, as carbon source, it can use for example polypeptone, casamino acid or other protein hydrolysate, meat extract, yeast extract, soybean lees, the corn steep liquor, amino acids or other organic nitrogen source and ammonium salt and nitrate salt or other inorganic nitrogen source in addition as nitrogen source. In addition, replenishment or other for osmotic pressure adjustment, pH adjustment and the trace component, various phosphate, also it is possible to add the magnesium nitrate, sodium chloride and calcium carbonate or other inorganic salts. Furthermore with objective which promotes growth of microbe, it is good adding various vitamin and nucleic acid related compound etc. Furthermore, in culture time, also it is possible to add the silicon, polypropylene glycol derivative and soybean oil or other foam inhibitor.

【0021】培養にあたっては、常法に従って、予め小規模で前培養を行って得られる培養物を用いて、本培養を行うことが望ましい。本培養の培養温度、培養期間、培養液のpH、通気量等の培養条件は、本発明の物質の蓄積が最大になるように、適当に選択、調節されるが、多くの場合、好ましくは0.5~2vvm、更に好ましくは0.5~1vvm程度の通気条件下に、一般には15~41°C、好ましくは20~37°C、更に好ましくは25~30°Cの温度で2~3日間、中性pH付近で培養することが好ましい。

[0021] At time of culture, following to conventional method, doing preculture beforehand with small scale, it is desirable main culture making use of the culture which is acquired. culture temperature of main culture, pH of culture time and culture fluid, the amount of aeration or other culture conditions, in order for accumulation of substance of this invention to become the maximum, suitably is selected and adjusts, but in many cases, the preferably 0.5 to 2 vvm, furthermore under aeration condition of preferably 0.5 to 1 vvm extent, generally 15 to 41 °C and preferably 20 to 37 °C, furthermore it is desirable with temperature of preferably 25 to 30 °C to culture with 2 to 3-day period and neutral pH vicinity.

【0022】本発明の化合物は、上記培養において、培養液および菌体の両方に蓄積されるので、培養液からは、酢酸エチル、クロロホルム、ジクロロメタン等の水とは任意に混合せず、しかも本発明の化合物を有効に抽出し得る有機溶媒を用いて抽出することができる。また、培養菌体からは、濾過もしくは遠心分離等の手段で集菌した菌体を、アセトン等の細胞壁を破壊する作用を有する溶媒を用いて、直接抽出することができる。さらに、培養菌体をガラスビーズ等を用いて破碎した後に、培養液からの抽出と同様にして抽出することもできる。

[0022] Because compound of this invention is accumulated to both of the fermentation broth and cell mass at time of above-mentioned culturing, it cannot mix with ethyl acetate, chloroform and dichloromethane or other water optionally from fermentation broth, it can extract furthermore making use of organic solvent which can extract compound of this invention effectively. In addition, it can extract directly from cultured cell mass the cell mass which microbe collection is done, making use of solvent which possesses the action which destroys acetone or other cell wall with filtration or centrifugal separation or other means. Furthermore, cultured cell mass fragmenting after doing, in same way as the extraction from fermentation broth it is possible also making use of glass bead etc to extract.

【0023】得られた粗抽出物から、本発明のUK-2化合物を単離・精製するには、通常の精製法を用いることができる。即ち、溶媒転溶、順相および逆相カラムクロマトグラフィー、ゲル通過クロマトグラフィー、結晶化等の精製手段を組み合わ

[0023] From crude extract which it acquires, isolation and purification to do UK-2 compound of the this invention, conventional purification method can be used. Namely, isolation and purification it is

ることにより、単離・精製することができる。また、本発明のUK-2化合物は、Rに種々のアシル基が導入された類縁体の混合物として產生されるので、その類縁体の単離・精製には、順相および逆相の高速液体クロマトグラフィー(HPLC)が特に有用である。例えば、通常の培養から得られた粗抽出物を減圧濃縮し、これをクロロホルムに転溶してシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、これをクロロホルム/メタノールのステップワイズで溶出すれば、UK-2AおよびUK-2Dを約3:1の割合で含有し、ここに微量のUK-2BおよびUK-2Cが混入したフラクションを得ることができる。さらにこれをC-18カラムを用いる逆相HPLCで処理することにより、これらの類縁体UK-2A、UK-2B、UK-2CおよびUK-2Dを単離することができる。

【0024】得られたUK-2化合物は、それぞれを単離して用いても良いが、それぞれの類縁体が同様の抗真菌活性を示すので、本発明の効果を損なわない限り、これらのUK-2化合物を単離することなく、混合物として用いることも可能である。

【0025】

【作用】本発明のUK-2化合物は、カンジダ等の酵母およびアスペルギルス、ペニシリウム、ムコール、クラドスボリウム、リゾpus、スクレロチナ、トリコデルマ等の糸状菌を含む真菌に対して強い抗菌作用を示すが、細菌に対する抗菌作用を示さない。また、培養細胞(マウス白血病P388)に対する細胞毒性が低いことから、本化合物に感受性を有する真菌が原因である真菌感染症治療用の抗真菌剤をはじめ、農園芸用抗真菌剤または工業用抗真菌剤として使用することが可能である。

【0026】本発明のUK-2化合物を真菌感染症治療用の抗真菌剤として使用するには、種々の投与形態に合わせて、UK-2を公知の医薬品用担体とを組み合わせて製剤化すれば良い。このような投与形態としては皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、坐薬等による非経口投与あるいは錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等による経口投与の全身投与の他、軟膏剤、ローション剤、塗坐薬等の局所投与の形態を例示することができる。

【0027】本発明のUK-2化合物を農園芸用抗真菌剤とし

possible due to especially combining the solvent solvent transfer, ordered phase and reverse phase column chromatography, gel filtration chromatography and crystallization or other purification means. In addition, because UK-2 compound of this invention is produced, as blend of analog where various acyl group is introduced into R, high-performance liquid chromatography (HPLC) of ordered phase and reverse phase especially is useful in isolation and purification of the analog. If vacuum concentration it does crude extract which is acquired from for example conventional culture, the solvent transfer does this in chloroform and attaches on silica gel column chromatography and liquuates this with stepwise of chloroform/ methanol, UK-2A and UK-2D can be contained at ratio of approximately 3:1, UK-2B of trace amount and fraction which UK-2C mixes can be acquired here. Furthermore these analog UK-2A, UK-2B, UK-2C and UK-2D can be isolated this by treating with reverse-phase HPLC which uses C-18 column.

[0024] Isolating each one, it is good using UK-2 compound which it acquires, but if because respective analog shows similar antimycotic activity, effect of the this invention is not impaired, also it is possible to use without isolating these UK-2 compound, as blend.

【0025】

[Work or Operations of the Invention] UK-2 compound of this invention shows strong antibacterial action vis-a-vis fungi which includes Candida or other yeast and Aspergillus, Penicillium, Mucor, the Cladosporium, Rhizopus, Sclerotinia and Trichoderma or other fungi, but antibacterial action for bacteria is not shown. In addition, from the fact that cytotoxicity for cultured cell (mouse leukemia P388) is low, in addition to antimycotic for mycosis treatment where fungi which possess the sensitivity in Compound is cause, as antimycotic or industrial antifungal agent for the horticulture it is possible to use.

[0026] You use UK-2 compound of this invention, a antimycotic for mycosis treatment adjusting to various medication configuration, formulating it does UK-2 combining with support for the drug of public knowledge, it is good. Other than systemic administration of oral administration due to parenteral administration or tablets, the capsules, powder and granule etc due to subcutaneous injection, intravenous injection, the percutaneous administration injection and suppository etc as this kind of medication configuration, it is possible to illustrate form of ointment, lotion agent and vaginal suppository or other topical administration.

[0027] You use UK-2 compound of this invention, a

て使用するには、種々の使用形態に合わせて、公知の担体および必要に応じて公知の補助剤とを組み合わせて製剤化すれば良い。このような製剤形態の例としては、粉剤、顆粒剤などの固形剤、溶液、乳剤、懸濁液、エアゾール剤等の液剤を例示することができる。このような農園芸用抗真菌剤は、本化合物に感受性を有する植物病原菌が原因である病害の防除に使用することができる。

【0028】本発明のUK-2化合物を工業用抗真菌剤として使用するには、種々の使用形態に合わせて、公知の担体および必要に応じて公知の補助剤とを組み合わせて製剤化すれば良い。このような工業用抗真菌剤は、一般産業用製品およびこれらの製品の製造工程中で問題となる有害真菌の繁殖を防御し、有害真菌の汚染を防止するために使用されるものであり、具体的には木材の表面汚染を防止する防黴剤、木材製品等の腐朽菌対策剤、塗料に添加する防腐・防黴剤、壁装剤、高分子加工時に添加する防黴剤、皮革、繊維および織物の加工に用いる防黴剤等を例示することができる。

【0029】

【実施例】次いで、実施例および評価例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下の例において「%」は特にことわらない限り「W/V%」である。

【0030】実施例1：UK-2A（式（1）において、Rがイソブチリル基（2-メチルプロパンオイル基）である化合物）の製造。

ステップa：ストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084の培養

グルコース1%、可溶性デンプン1%、小麦胚芽0.6%、ポリペプトン0.5%、乾燥酵母エキス0.3%、大豆粉0.2%、炭酸カルシウム0.2%を含み、pH7.0に調整した培地（以下、培地1と称する）を500ml容培養三角フラスコに100ml分注して、オートクレーブで滅菌した。これに斜面培養からストレプトバーティシリウム・エス・ピー・SAM2084を1白金耳接種し、30°Cで2日間ロータリーシェーカーで培養して種培養を得た。

【0031】5リットル容ジャーファーメンターに3リットル

s antimycotic for horticulture adjusting to various use shape, formulating it does combining with support of public knowledge and auxiliary agent of according to need public knowledge it is good. As example of this kind of formulation type, it is possible to illustrate the powder, granule or other solid agent, solution, emulsion, suspension and aerosol agent or other liquid. You can use for prevention of disease where plant pathogen which possesses sensitivity in Compound is cause antimycotic for this kind of horticulture.

[0028] You use UK-2 compound of this invention, as industrial antifungal agent adjusting to various use shape, the formulating it does combining with support of public knowledge and auxiliary agent of according to need public knowledge it is good. As for this kind of industrial antifungal agent, Propagation of toxic fungi which becomes problem in production step of the product and these product for general industry defense to do, It is something which is used in order to prevent pollution of the toxic fungi, concretely it is possible to illustrate anticorrosion * antifungal agent, are added at the time of wall-mounted agent and polymer processing antifungal agent, leather, fiber and is used for processing weave antifungal agent etc which are added to the antifungal agent, wood product or other rot microbe countermeasure agent and paint which prevent surface contamination of the wood.

【0029】

[Working Example(s)] Next, this invention furthermore is explained in detail with Working Example and the evaluation example, but this invention is not something which is limited in these. Furthermore, if especially it does not refuse "%", in the example below it is a "wt/vol%".

[0030] Working Example 1: In UK-2A{ Formula (1), production of compound } where R is the isobutyryl group (2-methyl propanoyl group).

Step a: Culture of *Streptoverticillium* sp. * SAM2084

Including glucose 1%, soluble starch 1%, wheat germ 0.6%, polypeptone 0.5%, dry yeast extract 0.3%, the soybean meal 0.2% and calcium carbonate 0.2%, 100 ml aliquot doing culture medium (Below, it names culture medium 1.) which you adjusted the pH 7.0 in 500 ml capacity culture erlenmeyer flask, sterilization it did with autoclave. In this 1 platinum loop inoculation it did *Streptoverticillium* sp. * SAM2084 from slant culture, with 30°C cultured with 2 day rotary shaker and acquired seed culture.

[0031] Inserting culture medium 1 of 3 liter in 5 liter c

の培地1を仕込み、加熱殺菌の後、上記の種培養を30ml添加して、30℃で、回転数500rpm、通気量1vvmの条件で48時間通気搅拌培養して、前培養とした。

【0032】600リットル容培養タンクに、グルコース3%、麦芽エキス0.5%、乾燥酵母エキス0.5%、炭酸カルシウム0.2%を含み、pH7.0に調整した培地（以下、培地2と称する）を300リットル仕込み、加熱殺菌の後、上記の前培養を3リットル添加して、30℃で、回転数250rpm、通気量1vvmの条件で48時間通気搅拌培養した。

【0033】ステップb：UK-2の抽出

ステップaで得られた培養液約300リットルをセライトを用いて過濾・集菌し、菌体に110リットルのアセトンを加えて抽出した。抽出液を減圧下に濃縮し、溶媒を留去した。これに25リットルのクロロホルムを加えてUK-2を抽出した。得られた抽出液を減圧下に濃縮し、溶媒を留去して油状物質150gを得た。

【0034】ステップc：UK-2の粗精製

ステップbで得られた抽出物の15gを60mlのクロロホルムに溶解し、シリカゲル（ワコゲルC-200・和光純薬工業製）を用いるカラムクロマトグラフィー（ $\phi 12 \times 44 \text{ cm}$, $Vt = 5 \text{ リットル}$ ）に付し、5リットルづつの、クロロホルム、クロロホルム/メタノール9:1（容積比、以下同じ）混液、クロロホルム/メタノール9:3:3混液、クロロホルム/メタノール9:4:6混液、クロロホルム/メタノール9:0:10混液の展開溶媒を用いてステップワイズで溶出した。活性物質はクロロホルム/メタノール9:7:3混液で溶出されたので、これを集めて減圧下に溶媒を留去し、粗精製物900mgを得た。この粗精製物は、UK-2A（Rがイソブチリル基の化合物）およびUK-2D（Rが2-メチルブタノイル基の化合物）を約3:1の割合で含有する他、微量のUK-2B（Rがtrans-2-メチル-2-ブテノイル基）およびUK-2C（Rが3-メチルブタノイル基の化合物）を含有していた。同様の操作をステップbで得られた抽出物について繰り返すことにより、合計約9gの粗精製物を得た。

【0035】ステップd：UK-2Aの精製

ステップcで得られた粗精製物をDevelopment-ODSカラム（ $\phi 20 \times 250 \text{ mm}$ 、野村化学社製）を用いる逆相高

capacity jar fermentor, after heat sterilization, the 30 ml adding above-mentioned seed culture, with 30 °C, 48-hour aerated stirred culture doing with condition of rotation rate 500 rpm and amount of aeration 1 vvm, it made preculture.

[0032] Including glucose 3%, malt extract 0.5%, dry yeast extract 0.5% and calcium carbonate 0.2% in 600 liter capacity culture tank, culture medium (Below, it names culture medium 2.) which you adjusted pH 7.0 after the 300 liter addition and heat sterilization, 3 liter adding above-mentioned preculture, with the 30 °C, 48-hour aerated stirred culture it did with condition of rotation rate 250 rpm and amount of aeration 1 vvm

[0033] Step b: Extraction of UK-2

Filtration * microbe collection it did fermentation broth approximately 300 liter which is acquired with step a making use of celite, it extracted in the cell mass including acetone of 110 liter. extract was concentrated under vacuum, solvent was removed. UK-2 was extracted in this including chloroform of 25 liter. extract which is acquired was concentrated under the vacuum, solvent was removed and oil 150g was acquired.

[0034] Step c: Crude purification of UK-2

It melted 15g of extract which is acquired with step b in the chloroform of 60 ml, it attached on column chromatography (12 X 44 cm, $Vt = 5 \text{ liter}$) which uses silica gel (Wako Gel C-200 * Wako Pure Chemical Industries Ltd. (DB 69-059-8875) make), it liquated with stepwise, chloroform at a time of 5 liter, the chloroform/methanol 9:1 (Same below volume ratio and) mixed solution, making use of developing solvent of chloroform/methanol 97:3 mixed solution, chloroform/methanol 94:6 mixed solution and the chloroform/methanol 90:10 mixed solution. Because active substance was liquated with chloroform/methanol 97:3 mixed solution, gathering this, it removed solvent under vacuum, acquired crudely purified product 900 mg. This crudely purified product, UK-2A (R compound of isobutyryl group) and besides UK-2D (R compound of 2-methyl butanoyl group) is contained at ratio of approximately 3:1, UK-2B of trace amount (R trans-2-methyl-2-butenoyl group) and contained the UK-2C (R compound of 3-methyl butanoyl group). crudely purified product of total approximately 9g was acquired by repeating concerning extract which acquires similar operation with step b.

[0035] Step d: Refining UK-2A

Crudely purified product which is acquired with step c while attaching on the reverse phase high speed column

速カラムクロマトグラフィー (HPLC) に付し、210 nm の紫外吸収でモニターしながら、60% (容積比) アセトニトリル／水で流速5 ml/minで展開した。UK-2Aはこの条件で保持時間60分の箇所にシングルピークとして溶出された。同様の条件でHPLCの分取を繰り返し、ステップcの粗精製物200 mgから合計120 mgのUK-2Aを得た。この化合物の物性値を〔表2〕に示す。UK-2Aは、これらのデータから、式(1)においてRがイソブチリル基(2-メチルプロパノイル基)である化合物と構造決定された。

[0036]

〔表2〕

〔表2〕 化合物UK-2Aの物性値

性状：

白色針状結晶

IR (Nujol) (ν cm⁻¹) :

3350, 2950-2800, 1740, 1640, 1600, 1570, 1240, 1140

¹H-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 400 MHz) :

1.23(d, 6H), 1.32(d, 3H), 2.60(m, 1H), 2.72(dd, 1H), 2.96(dd, 1H),
 2.97(dt, 1H), 3.68(bs, 1H), 3.95(s, 3H), 4.99(dq, 1H), 5.15(bt, 1H),
 5.20(t, 1H), 5.33(bs, 1H), 6.87(d, 1H), 7.12(d, 2H), 7.19(d, 1H),
 7.26(d, 2H), 7.99(d, 1H), 8.73(d, 1H), 11.90(s, 1H).

¹³C-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 100 MHz) :

17.88(q), 18.97(q), 34.18(d), 34.69(t), 50.25(d),
 52.04(d), 56.29(q), 64.96(d), 74.86(d), 75.25(d),
 109.74(d), 126.73(d), 128.64(d), 128.79(d), 129.56(s),
 137.98(s), 140.23(d), 149.29(s), 156.18(s), 168.72(s),
 169.67(s), 171.83(s), 175.61(s).

FAB MS:

m/z : 515.2 (M+H)⁺

HR FAB MS:

m/z : 515.2032 (M+H)⁺ for C₂₆H₃₁N₃O₃

〔0037〕実施例2：UK-2B〔式(1)において、Rがチグロイル基(trans-2-メチル-2-ブテノイル基)である化合物〕の製造。

実施例1のステップcで得られた粗精製物をD e V e l o s i l - ODSカラム(Φ20×250 mm, 野村化学社製)を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー(HPLC)に付し、210 nmの紫外吸収でモニターしながら、60%アセトニ

chromatography (HPLC) which uses D e V e l o s i l - ODS column (20 X 250 mm, Nomura Kagaku supplied); monitor doing with ultraviolet absorption of the 210 nm, with 60% (volume ratio) acetonitrile / water it developed with flow rate 5 ml/min. UK-2A with this condition was liquated in site of retention time 60 min as the single peak. fraction collection of HPLC was repeated with similar condition, UK-2A of total 120 mg was acquired from crudely purified product 200 mg of step c. It shows to property value of this compound (Table 2). UK-2A was done compound and structure determination where R is the isobutyryl group (2-methyl propanoyl group) from these data, in Formula (1).

[0036]

〔Table 2〕

〔0037〕Working Example 2: In UK-2B{Formula (1)}, production of compound } where R is the tigloyl group (trans-2-methyl-2-butenoyl group).

Crudely purified product which is acquired with step c of Working Example 1 while attaching on reverse phase high speed column chromatography (HPLC) which uses D e V e l o s i l - ODS column (20 X 250 mm,

リル／水で流速 5 ml/min で展開した。UK-2B はこの条件で保持時間 6.9 分の箇所にシングルビークとして溶出された。同様の条件で HPLC の分取を繰り返し、ステップ c の粗精製物 200 mg から合計 2 mg の UK-2B を得た。この化合物の物性値を [表 3] に示す。UK-2B は、これらのデータから、式 (1) において R がチグロイル基 (trans-2-メチル-2-ブテノイル基) である化合物と構造決定された。

[0038]

[表 3]

〔表 3〕 化合物 UK-2B の物性値

性 状 :

白色針状結晶

¹H-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 400 MHz) :

1.33(d, 3H), 1.84(dd, 3H), 1.86(bs, 3H), 2.74(dd, 1H), 2.95(dt, 1H),
 3.01(dd, 1H), 3.70(bs, 1H), 3.96(s, 3H), 5.02(dq, 1H), 5.18(bt, 1H),
 5.29(t, 1H), 5.36(bs, 1H), 6.91(d, 1H), 6.95(dd, 1H), 7.12(d, 2H),
 7.18(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.01(d, 1H), 8.83(d, 1H), 11.88(s, 1H).

¹³C-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 100 MHz) :

12.18(q), 14.59(q), 17.91(q), 34.71(t), 50.32(d), 52.03(d),
 56.41(q), 63.34(d), 75.03(d), 75.06(d), 109.58(d), 126.63(d),
 127.82(d), 128.63(d), 128.76(d), 129.34(s), 138.05(s), 140.05(s),
 140.10(d), 152.34(s), 158.88(s), 166.59(s), 168.41(s), 171.93(s),
 176.13(s).

FAB MS :

m/z : 527.1 (M+H)⁺

HR FAB MS :

m/z : 527.2030 (M+H)⁺ for C₂₂H₃₂N₂O.

〔0039〕実施例 3：UK-2C [式 (1) において、R がイソバレリル基 (3-メチルブタノイル基) である化合物] の製造。

実施例 1 のステップ c で得られた粗精製物を D e v e l o s i l - O D S カラム (φ 20 × 250 mm, 野村化学社製) を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー (HPLC) に付し、210 nm の紫外吸収でモニターしながら、60% アセトニトリル／水で流速 5 ml/min で展開した。UK-2C はこの条件で保持時間 8.1.5 分の箇所にショルダーピークとして溶出された。UK-2C は、このショルダーピークを分取し、同様の条件で HPLC を繰り返してシングルビークを示すまで精製することにより得られた。このようにして、ステップ c の粗

Nomura Kagaku supplied), monitor doing with the ultraviolet absorption of 210 nm, with 60% acetonitrile / water it developed with flow rate 5 ml/min. UK-2B with this condition was liquated in site of retention time 6.9 min as the single peak. fraction collection of HPLC was repeated with similar condition, UK-2B of total 2 mg was acquired from crudely purified product 200 mg of step c. It shows to property value of this compound (Table 3). UK-2B was done compound and structure determination where R is the isovaleryl group (trans-2-methyl-2-butenoyl group) from these data, in Formula (1).

[0038]

[Table 3]

[0039] Working Example 3: In UK-2C{ Formula (1), production of compound } where R is the isovaleryl group (3-methyl butanoyl group).

Crudely purified product which is acquired with step c of Working Example 1 while attaching on reverse phase high speed column chromatography (HPLC) which uses D e V elosil - ODS column (20 X 250 mm, Nomura Kagaku supplied), monitor doing with the ultraviolet absorption of 210 nm, with 60% acetonitrile / water it developed with flow rate 5 ml/min. UK-2C with this condition was liquated in site of retention time 81.5 min as the shoulder peak. This

精製物 200 mg から合計 1 mg の UK-2C を得た。この化合物の物性値を [表 4] に示す。UK-2C は、これらのデータから、式 (1) において R がイソバレリル基 (3-メチルブタノイル基) である化合物と構造決定された。

【0040】

【表 4】

[表 4] 化合物 UK-2C の物性値

性 状 :

白色粉末

¹H-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 400 MHz) :

0.99(d, 6H), 1.33(d, 3H), 2.18(m, 1H), 2.28(bd, 2H), 2.72(d, 1H),
 2.92(d, 1H), 2.96(dt, 1H), 3.77(bs, 1H), 3.99(s, 3H), 4.97(dq, 1H),
 5.14(bt, 1H), 5.22(t, 1H), 5.32(bs, 1H), 6.95(d, 1H), 7.12(d, 2H),
 7.20(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.03(bd, 1H), 9.09(bs, 1H), 11.85(s, 1H).

¹³C-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 100 MHz) :

17.92(q), 22.46(q), 25.49(d), 34.70(t), 43.18(t), 50.06(d),
 52.00(d), 56.24(q), 64.99(d), 74.79(d), 75.01(d), 109.64(d),
 126.76(d), 128.62(d), 128.76(d), 129.51(s), 137.88(s), 140.35(d),
 149.06(s), 155.89(s), 168.69(s), 169.69(s), 171.80(s), 175.30(s).

E I M S :

m/z : 528 (M⁺) for C₂₇H₃₈N₂O₃

【0041】実施例 4 : UK-2D [式 (1) において、R が 2-メチルブタノイル基である化合物] の製造。

実施例 1 のステップ c で得られた粗精製物を D e v e l o p i - O D S カラム (ϕ 20 × 250 mm, 野村化学社製) を用いる逆相高速カラムクロマトグラフィー (HPLC) に付し、210 nm の紫外吸収でモニターしながら、60% アセトニトリル / 水で流速 5 ml/min で展開した。UK-2D はこの条件で保持時間 8.2 分の箇所に、UK-2C のショルダーピークを伴って溶出された。UK-2D は、このメインピークを分取し、同様の条件で HPLC を繰り返し、シングルピークを示すまで精製することにより得られた。このようにして、ステップ c の粗精製物 200 mg から合計 20 mg の UK-2D を得た。この化合物の物性値を [表 5] に示す。UK-2D は、これらのデータから、式 (1) において R が 2-メチルブタノイル基である化合物と構造決定された。

shoulder peak fraction collection it did UK-2C, it acquired by until single peak is shown over again, refining HPLC with similar condition. This way, UK-2C of total 1 mg was acquired from crudely purified product 200 mg of the step c. It shows to property value of this compound (Table 4). UK-2C was done compound and structure determination where R is the isovaleryl group (3-methyl butanoyl group) from these data, in Formula (1).

[0040]

[Table 4]

[0041] Working Example 4: In UK-2D{ Formula (1), production of compound } where R is the 2-methyl butanoyl group.

Crudely purified product which is acquired with step c of Working Example 1 while attaching on reverse phase high speed column chromatography (HPLC) which uses D e v elosil - ODS column (20 X 250 mm, Nomura Kagaku supplied), monitor doing with the ultraviolet absorption of 210 nm, with 60% acetonitrile / water it developed with flow rate 5 ml/min. UK-2D was liquated accompanying shoulder peak of UK-2C site of retention time 8.2 min, with this condition. Until this main peak fraction collection it does UK-2D, repeats HPLC with the similar condition, shows single peak it acquired by refining. This way, UK-2D of total 20 mg was acquired from crudely purified product 200 mg of the step c. It shows to property value of this compound (Table 5). UK-2D was done compound and structure determination where R is the 2-methyl butanoyl group from these data, in

Formula (1).

【0042】

[0042]

【表5】

[Table 5]

【表5】化合物UK-2Dの物性値

性状：

白色粉末

¹H-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 400 MHz) :

0.95(t, 3H), 1.22(d, 3H), 1.33(d, 3H), 1.52(m, 1H), 1.77(m, 1H),
 2.43(m, 1H), 2.72(d, 1H), 2.92(d, 1H), 2.96(dt, 1H), 3.77(bs, 1H),
 3.99(s, 3H), 4.97(dq, 1H), 5.14(bt, 1H), 5.22(t, 1H), 5.32(bs, 1H),
 6.95(d, 1H), 7.12(d, 2H), 7.20(d, 1H), 7.25(d, 2H), 8.03(bd, 1H),
 9.09(bs, 1H), 11.85(s, 1H).

¹³C-NMR (δ ppm) (CDCl₃, 100 MHz) :

11.79(q), 16.74(q), 17.92(q), 26.51(t), 34.70(t), 41.27(d),
 50.08(d), 52.00(d), 58.24(q), 64.99(d), 74.79(d), 75.01(d),
 109.64(d), 126.76(d), 128.62(d), 128.76(d), 129.51(s), 137.88(s),
 140.35(d), 149.06(s), 155.89(s), 168.69(s), 169.69(s), 171.80(s),
 175.30(s).

EIMS:

m/z : 528 (M⁺)

HR EIMS:

m/z : 528.2114 (M⁺) for C₁₇H₂₁N₂O₃

【0043】評価例1：UK-2Aの抗菌スペクトラムの測定

本発明の化合物の一つであるUK-2Aの抗菌スペクトラムを液体希釈法（山口英世著「今日の抗生物質」162-189頁・1984年・東京・南山堂）を用いて評価した。その結果を【表6】に示す。

【0044】

[0043] Evaluation example 1: Measurement of antibacterial spectrum of UK-2A

Antibacterial spectrum of UK-2A which is a one of compound of this invention was appraised making use of liquid dilution method (Yamaguchi Hideyo work "Present antibiotic " 162 - 189 page * 1984 * Tokyo * Nanzando). It shows to result (Table 6).

[0044]

【表6】

〔表6〕UK-2Aの抗真菌活性

[Table 6]

微生物名	株番号	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
<i>Candida albicans</i>	IFO 1061	0.39
<i>Candida rugosa</i>	IFO 1364	0.05
<i>Candida utilis</i>	IFO 6020	> 100
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IFO 0203	> 100
<i>Aspergillus funigatus</i>	IFO 5840	0.78
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 6275	0.39
<i>Aspergillus oryzae</i>	分離株	0.025
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	分離株	0.00625
<i>Mucor mucedo</i>	IFO 7684	12.5
<i>Neurospora sitophila</i>	DSM 1130	12.5
<i>Penicillium crysogenum</i>	IFO 4626	0.1
<i>Penicillium notatum</i>	IFO 4640	0.39
<i>Phycomyces nitens</i>	IFO 7684	0.00625
<i>Rhizopus chinensis</i>	分離株	0.78
<i>Rhizopus delemar</i>	IFO 4775	2.5
<i>Rhizopus formosensis</i>	IFO 4732	6.25
<i>Rhizopus niveus</i>	IFO 4759	0.00313
<i>Rhizopus oryzae</i>	IFO 4766	0.025
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	IFO 5292	0.00625
<i>Thamnidium elegans</i>	IFO 6152	0.00156
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	分離株	0.2

【0045】UK-2Aは、〔表6〕に示すように、カンジダ等の酵母およびアスペルギルス、ペニシリウム、ムコール、クラドスボリウム、リゾpus、スクレロチナ、トリコデルマ等の糸状菌を含む真菌に対して強い抗菌作用を示したが、細菌に対しては抗菌作用を示さなかった。また、UK-2B、UK-2CおよびUK-2DもUK-2Aと同様の抗菌スペクトラムを示した。さらに、本発明のUK-2化合物はいずれも、マウス白血病細胞であるP388に対して、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で増殖抑制作用を殆ど示さなかった。

【0046】

【発明の効果】本発明によれば、新規な抗真菌物質であるUK-2およびストレプトバーティシリウムに属するUK-2生産菌を培養して、その培養液および/または培養菌体からUK-

[0045] UK-2A, as in (Table 6) shown, showed strong antibacterial action vis-a-vis thefungi which includes *Candida* or other yeast and *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, the *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Sclerotinia* and *Trichoderma* or other fungi, but antibacterial action was notshown vis-a-vis bacteria. In addition, antibacterial spectrum where also UK-2B, UK-2C and UK-2Dare similar to UK-2A was shown. Furthermore, UK-2 compound of this invention none, almost showed growth-suppressing action withthe concentration of 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ vis-a-vis P388 which is a mouse leukemia cell.

[0046]

[Effects of the Invention] According to this invention, culturing UK-2 producing microbe which belongs to UK-2and *Streptoverticillium* which are a novel

2を製造する方法を提供することができる。本発明のUK-2は、9員環のジラクトン構造を有する新規な抗真菌物質であり、Rに種々のアシル基が導入されたエステル体の混合物として得られるが、これらの類縁体は同様の抗菌活性を有するため、これらの類縁体を単離しては勿論、その用途に応じてこれらの類縁体の混合物のまま、抗真菌剤の有効成分として使用することができる。本発明のUK-2化合物は、培養細胞に対して細胞毒性が低いので、ヒトおよび哺乳類、魚類に対しても毒性が低いことが予想され、医薬および動物薬、農園芸用抗真菌剤および工業用抗真菌剤として応用することが可能である。

antimycotic substance, it can offer method which produces the UK-2 from culture fluid and/or cultured cell mass. UK-2 of this invention is novel antimycotic substance which possesses di lactone structure of the 9-member ring, it is acquired, as mixture of ester where various acyl group is introduced into R, but in order to possess similar antibiotic activity, isolating these analog, of course, you can use these analog while it is a mixture of these analog according to application, as active ingredient of the antimycotic. Because as for UK-2 compound of this invention, cytotoxicity is low vis-a-vis the cultured cell, as pharmaceutical and veterinary drug, antimycotic and industrial antifungal agent for the horticulture it is possible to be expected, that toxicity is low vis-a-vis the human and mammals and fish to apply.